

Microbiología y entomología: ¿Qué podemos aprender desde la ecología química?

Jorge Alberto Molina¹

¹ Ph. D. Universidad de los Andes, Bogotá, D.C.

Introducción

Las células procariotas son los organismos vivos más abundantes en la naturaleza (Curtis *et al.* 2002; Torsvik *et al.* 2002). Pueden ser encontrados en hábitats extremos y no extremos del planeta (Madigan y Marrs 1997) e interactuando de diversas maneras con otros procariotas o eucariotas (Peleg *et al.* 2008; Kai *et al.* 2009).

Una pregunta que se formula constantemente cuando se comienza a profundizar en las interacciones que involucran procariotas es: ¿qué compuestos químicos son utilizados como intermediarios en dichas interacciones? Para muchos microbiólogos no es raro reconocer que las bacterias tienen un olor (Schulz y Dikschaft 2007; Bailly y Weisskopf 2012) y a partir de esta experiencia sensorial no es difícil imaginarse que estos compuestos volátiles emitidos por las bacterias como parte de su metabolismo pueden estar directamente involucrados en procesos que median la comunicación entre organismos de diferentes o de la misma especie (Kai *et al.* 2009).

Por su parte, dentro de los eucariotas los organismos más abundantes son los insectos (Grimaldi y Engel 2005), quienes también pueden ser encontrados en diversos hábitats del planeta y sobreviviendo a diferentes condiciones extremas (Bale 1996; Strathdee y Bale 1998; Watanabe *et al.* 2002). Desde el punto de vista de las interacciones entre insectos con otros organismos sobresalen aquellas que llevan a cabo con bacterias simbióticas (Werren 1997), con levaduras (Witzgall *et al.* 2012) y con las plantas como polinizadores (Bourke *et al.* 2013).

En el caso de los insectos la pregunta que siempre está relacionada con las interacciones con otros organismos es: ¿cómo detectan los insectos las señales químicas que juegan un papel en su ecología? Para los entomólogos las capacidades olfativas de los insectos son ampliamente reconocidas y para entender el funcionamiento de este sistema sensorial la mayoría de las investigaciones se han centrado en las antenas como órganos quimiorreceptores presentes en los insectos (Grimaldi y Engel 2005; Bőroczi *et al.* 2013).

Para hacernos una idea de la complejidad del mundo químico al que están expuestos los sistemas sensoriales de los insectos podemos tomar como ejemplo una casa normal y observar todos los elementos que se encuentran en el comedor. Para nosotros los humanos el pobre olor de este ambiente en realidad es un espacio de olores muy complejo que comprende un amplio rango de volátiles desde la perspectiva de la antena de una mosca (Stensmyr 2004).

Acerquémonos al frutero de la mesa y los aproximadamente 230 volátiles emitidos por un banano, o los 200 emitidos por una piña se convertirán en una sinfonía de olores que aumentará en la medida que las frutas vayan madurando y pasen de alcoholes y aldehídos en las fases verdes del fruto a los ésteres típicos de las fases maduras (Stensmyr 2004). Finalmente, se espera que con la degradación de la fruta se obtenga una mezcla de diferentes clases de compuestos productos del metabolismo de los microorganismos actuando sobre el recurso (Stensmyr 2004).

Así como en el ejemplo anterior, el objetivo de esta revisión es relacionar la microbiología con la entomología y para ello vamos a poner a interactuar los olores emitidos por los procariotas durante su metabolismo con las capacidades de detección de dichas moléculas volátiles por las antenas de los insectos. Para lograr esto voy a llamar la atención sobre el papel de las sustancias volátiles emitidas por bacterias como intermediarios en diferentes interacciones biológicas que involucran insectos. Como se verá en algunos de los ejemplos que se van a abordar a continuación, las interacciones son diversas, pero en todas, los dos grupos de organismos más diversos y abundantes en el planeta resaltan la importancia de la ecología química como una disciplina multidisciplinaria e integradora con un amplio potencial de investigación a futuro y con la ventaja de aportar al desarrollo de soluciones prácticas a problemas agrícolas, forenses y de transmisión de enfermedades tropicales.

Ecología química y detritívoros

Un vertebrado muerto tiene una sucesión faunística compleja y dependiente del tiempo que está compuesta por aves, mamíferos omnívoros e insectos (Paczkowski y Schütz 2011). Sin embargo, con respecto a las sucesiones microbiológicas que se pueden encontrar en los cadáveres de vertebrados la literatura experimental existente es poca (Hopkins *et al.* 2000).

A pesar de este hecho, es claro que los microorganismos juegan un papel muy importante como recicladores en los ecosistemas al degradar materia orgánica e inorgánica (Paczkowski y Schütz 2011). En estos procesos de degradación las reacciones químicas catalizadas por enzimas microbianas liberan compuestos orgánicos volátiles como productos intermedios o terminales (Paczkowski y Schütz 2011). Debido a que las reacciones de descomposición dependen de la temperatura del hábitat, de la composición del material a degradar y de la competencia entre diferentes especies de microbios (Kai *et al.* 2009), los patrones de liberación de los volátiles es bastante compleja (Vass *et al.* 2008; Paczkowski y Schütz 2011).

Dentro de la gran diversidad de compuestos volátiles liberados por procesos bacterianos sobresalen los alcoholes, ácidos orgánicos, ésteres, aldehídos, cetonas y compuestos aromáticos. Sin embargo, tal vez las moléculas volátiles más reconocidas durante el proceso de descomposición de un vertebrado son los compuestos nitrogenados productos de la actividad bacteriana al descomponer proteínas, como por ejemplo los compuestos poco volátiles conocidos como cadaverina y putrescina (Statheropoulos *et al.* 2007; Paczkowski y Schütz 2011).

Estos compuestos son no solo atractivos para insectos que buscan poner sus huevos en los cadáveres, sino que también son utilizados por diferentes plantas para asegurar su polinización. Como ejemplos que nos ayudan a ilustrar el caso tenemos las flores e inflorescencias más grandes del planeta (*Rafflesia* sp. y *Amorphophalus titanum* respectivamente) y también algunas otras flores que no solo por su bizarra forma son llamativas, sino también por su fuerte bouquet de olores que recuerdan un cadáver en descomposición (Stensmyr *et al.* 2002). Los volátiles producidos por la flor actúan como mensaje para atraer insectos y capturarlos temporalmente en la flor para asegurar su polinización (Stensmyr *et al.* 2002; Stensmyr 2004). Finalmente, este interesante sistema de polinización tiene como elemento adicional el engaño al que es sometido un grupo de insectos, a los cuales sus sistemas sensoriales les indican que se está acercando a un cadáver, cuando en realidad su comportamiento está contribuyendo silenciosamente a un caso de reproducción sexual en el cual el insecto no recibe ningún tipo de retribución por la labor llevada a cabo (Stensmyr 2004).

Una de las aplicaciones más importante del estudio de las interacciones bacteria-insectos en cadáveres en descomposición es la relacionada con la emisión de compuestos volátiles y como estos pueden ayudar a determinar el intervalo postmortem durante las investigaciones de crímenes (Paczkowski y Schütz 2011). La lógica detrás de la ecología química del proceso es que varios autores sugieren que patrones dinámicos de emisión de volátiles podrían ser utilizados para determinar el intervalo postmortem con base en las larvas de insectos presentes en el cadáver. Debido a la complejidad química del proceso de degradación se sugiere que se podrían utilizar los insectos y sus fases inmaduras como filtros indicadores de tiempo (Paczkowski y Schütz 2011). Como ejemplo que ilustra lo anterior se tiene a dípteros generalistas como *Calliphora vicina* o *Lucilia caesar* presentes durante todas las fases de descomposición y otras especies especialistas que solamente se encuentran en ciertas etapas de decaimiento del cuerpo como *Hydrotaea aenescens* o *H. meteorica* (Matuszewski *et al.* 2010; Paczkowski *et al.* 2011).

Ecología química y fitófagos

La presencia de bacterias en el suelo y liberando sustancias volátiles que tienen efectos benéficos sobre el crecimiento de las plantas ha sido documentada (Ryu *et al.* 2003) y revisada (Bailly y Weisskopf 2012). Dentro de los compuestos volátiles emitidos por las bacterias y con un efecto sobre el crecimiento de las plantas resaltan 300 moléculas identificadas y una alta proporción aún no identificadas (Bailly y Weisskopf 2012).

Reducción en el crecimiento de plantas también ha sido reportada ante la presencia de bacterias como: *Burkholderia* sp, *Chromobacterium* sp, *Pseudomonas* sp, *Serratia* sp. y *Stenotrophomonas* sp. responsables de liberar compuestos como amonio, dimetil disulfido y cianuro de hidrógeno (Bailly y Weisskopf 2012). Por su parte, un aumento en el crecimiento de plantas ha sido registrado cuando crecen plantas con bacterias como *Arthrobacter* sp, *Bacillus* sp,

Burkholderia sp, *Pseudomonas* sp. y *Serratia* sp. y que producen volátiles como acetoin, 2,3-butanediol, dimetilhexadecilamina y 2-pentilfuran (Bailly y Weisskopf 2012).

Además de la presencia de bacterias en el suelo, las superficies aéreas de las plantas proveen diversos hábitats que también pueden ser colonizados por diferentes especies de bacterias (Junker *et al.* 2011). En estos casos, la presencia de nutrientes y la emisión o secreción de metabolitos secundarios que inhiben o facilitan el crecimiento bacteriano tienen un impacto en la distribución de las bacterias sobre diferentes partes de las plantas (Bednarek y Osbourn 2009).

La filósfera es el hábitat microbiano encontrado sobre la superficie aérea de las plantas (Izhaki *et al.* 2013) y ha sido reconocida por ser colonizada por ensamblajes de microorganismos que incluyen hongos filamentosos, levaduras, bacterias y bacteriófagos (Lindow y Brandl 2003). Las hojas han sido las partes aéreas de las plantas más estudiadas y en ellas se han encontrado bacterias pertenecientes a las familias Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae y Microbacteriaceae (Krimm *et al.* 2005; Junker *et al.* 2011).

Las flores como superficie óptima para el crecimiento de bacterias han sido menos estudiadas en comparación con las hojas (Junker *et al.* 2011). Sin embargo, los pocos estudios realizados demuestran que la diversidad de bacterias es menor sobre las flores que sobre las hojas y que la familia Enterobacteriaceae es la predominante en los pétalos (Krimm *et al.* 2005; Junker *et al.* 2011). El papel en la polinización de las moléculas volátiles emitidas por las bacterias presentes en las flores es un campo en la interacción planta-bacteria-insecto aún a la espera de ser abordado (Junker *et al.* 2011).

La amplia variedad de cepas bacterianas y especies de plantas reportadas en interacciones mediadas por VOCs sugiere que la respuesta fisiológica a moléculas señales puede ser compartida universalmente (Bailly y Weisskopf 2012). Este concepto es soportado asombrosamente por el hecho de que la mayoría de los compuestos volátiles bacterianos fueron ya descritos como semioquímicos en la comunicación planta-insecto o las interacciones bacteria-bacteria y bacteria-animal (Kai *et al.* 2009).

Finalmente es importante resaltar las interacciones planta-bacteria patógena-vector, en las cuales sobresale como las plantas atacadas por bacterias cambian su producción de sustancias volátiles en cantidad y calidad y como este cambio en el patrón de olores beneficia a los insectos vectores del patógeno que se ven fuertemente atraídos por las sustancias ahora liberadas (Mann *et al.* 2012). Por ejemplo, plantas de cítricos infectadas con la bacteria *Candidatus Liberibacter asiaticus* liberan más metilsalicilato que las plantas no infectadas quienes a su vez liberan más metil antranilato y D-limoneno. Esta liberación diferencial atrae más al insecto vector *Diaphorina citri*. Este tipo de interacciones demuestran como las bacterias afectan a su planta huésped para aumentar la posibilidad de su transmisión a nuevas plantas aún no infectadas (Mann *et al.* 2012).

Ecología química y hematófagos

Las bacterias que habitan la piel de los humanos no solamente actúan como patógenos o como defensa contra enfermedades, sino que también son importantes produciendo olores que son atractivos para mosquitos, ácaros, garrapatas y triatominos (Verhulst *et al.* 2010; Ortiz y Molina 2010; Ortiz *et al.* 2011).

La producción de estas sustancias volátiles importantes en la atracción de insectos hematófagos se logra por la presencia de las bacterias cutáneas en la vecindad de las glándulas apocrinas y ecrinas de la piel, quienes logran que el sudor humano inodoro adquiera un olor después de ser incubado por ellas (Verhulst *et al.* 2010). Es así como las *Corynebacterias* toman los ácidos grasos de cadena larga de la piel y los transforman en ácidos grasos de cadena corta o media que producen mal olor (James *et al.* 2004). Luego las *Brevibacterias* y los *Micrococos* toman estos ácidos grasos cortos y los metabolizan aún mas (James *et al.* 2004). Completando la secuencia de producción de sustancias volátiles se encuentran los *Staphylococcus* quienes convierten los aminoácidos de cadenas ramificadas en aminoácidos de cadenas cortas altamente volátiles (James *et al.* 2004).

La demostración del efecto de las bacterias sobre la producción de volátiles atractivos para mosquitos se logró después de incubar sudor ecrino con bacterias durante uno o dos días y luego confirmar su efecto atractivo para mosquitos de la especie *Anopheles gambiae* (Braks y Takken 1999). Posteriormente se demostró que los volátiles emitidos por bacterias cultivadas de la piel y mantenidas *in vitro* en cajas de Petri con agar son también atractivas para *Anopheles gambiae* (Verhulst *et al.* 2009).

El papel de las bacterias de la piel en la atracción de insectos hematófagos y su importancia evolutiva en las interacciones huésped-vector quedó demostrada con la reciente evidencia de atracción en insectos hemimetábolos como *Rhodnius prolixus* de los volátiles emitidos por las bacterias cutáneas (Ortiz y Molina 2010). En esta especie la aplicación de geles antibacteriales en la piel de la cara elimina el efecto atractivo por algunas horas y este se recupera después de 12 horas de iniciado el tratamiento (Ortiz y Molina 2010; Ortiz *et al.* 2011).

Microbiología, entomología y ecología química aplicadas

Tal vez uno de los ejemplos más interesantes de interacción tritrófica entre bacterias e insectos fue reportada por Leroy *et al.* (2011). El caso es uno de los mejores ejemplos que ayuda a ilustrar como la ecología química surge como una estrategia novedosa para brindar herramientas que permitan controlar una plaga que se ha convertido en un serio problema en la producción agrícola. Las estrategias de control (químico y biológico) que por excelencia son implementadas en casos donde la plaga tiene fuertes efectos en la economía han sido burladas y han permitido el aumento de las poblaciones del áfido *Acyrtosiphon pisum* (Leroy *et al.* 2011).

En este ejemplo se encontró como la bacteria *Staphylococcus sciuri* aislada de las secreciones ricas en azúcares y aminoácidos del áfido *A. pisum* produce las cairomonas 3-metil-2-butenal y el ácido 2-metilbutanoico que aumentan la atracción e inducen la ovoposición en la mosca *Episyrphus balteatus*, enemigo natural del áfido (Leroy *et al.* 2011).

Los volátiles producidos por la bacteria y que actúan como cairomonas son producto del metabolismo de los abundantes aminoácidos presentes en las secreciones de los áfidos y llevados a cabo a nivel general por todos los *Staphylococcus* (Schulz y Dickschat 2007).

Experimentos de laboratorio, en invernadero y en campo demostraron que la aplicación de *S. sciuri* en las plantas induce una atracción y al mismo tiempo una ovoposición significativamente mayor sobre ellas de las moscas con potencial de ser utilizadas como controladoras biológicas (Leroy *et al.* 2011). Estos resultados sugieren entonces que la aplicación de las cairomonas producidas por *Staphylococcus sciuri* podrían ser utilizadas para aumentar la posibilidad de que los áfidos y las moscas entren en contacto, disminuyendo de esta manera el efecto negativo de los primeros sobre las plantas.

Aplicaciones en biosensores

Los biosensores son básicamente instrumentos de medición que muestrean compuestos químicos, organismos o parámetros físicos por la combinación espacial y funcional de componentes biológicos orgánicos como proteínas, organelos, células o fragmentos de organismos con partes de un dispositivo técnico o transductor químico que generalmente produce una señal eléctrica de salida (Paczkowski *et al.* 2011). Con la combinación de un transductor técnico y una unidad sensorial biológica es posible reproducir las capacidades de sensibilidad y selectividad de los sensores naturales en campos de aplicación casi ilimitados (Paczkowski *et al.* 2011).

Los biosensores se clasifican dependiendo del tipo de biocomponente utilizado, el estado de desarrollo (generación) y el tipo de transductor (Paczkowski *et al.* 2011). Para el caso de la presente revisión voy a centrarme exclusivamente en biosensores inspirados en el sistema olfativo de los insectos, que sean de segunda o tercera generación y por afinidad, es decir que no producen un metabolito como producto.

Los biosensores inspirados en el sistema olfativo de los insectos utilizan como principio básico la alta selectividad y sensibilidad de las proteínas receptoras olfativas que se encuentran en las membranas dendríticas de las neuronas sensoriales. Por ejemplo, *Bombyx mori* es capaz de rastrear 1000 moléculas/s de su feromona bombycol en 1 cm³ de aire. Esto es equivalente a detectar 1 g de azúcar diluido y distribuido en todo el volumen de agua del lago Constanza (Paczkowski *et al.* 2011). Además de la sensibilidad del sistema otra ventaja es la capacidad de detección de la molécula de interés en ambientes químicos complejos, para este caso se puede ilustrar la situación con la especie *Melanophila acuminata* que puede detectar a más de un kilómetro las moléculas de un pino (*Pinus sylvestris*) de 30 cm de diámetro quemándose y liberando 7 g de guaiacol por hora bajo una velocidad del viento de 0,3 m/s (Schütz *et al.* 1999).

La aproximación metodológica base para los biosensores inspirados en antenas de insectos son los electroantenogramas, una técnica desarrollada en 1957 (Schneider 1957). Cambios de voltaje en las señales eléctricas obtenidas en la antena estimulada con sustancias químicas y filtradas para el ruido electromagnético de 60 Hz son las respuestas observadas. Los resultados obtenidos pueden de esta manera ser cuantificados para determinar el efecto de compuestos individuales y del aumento en sus concentraciones (Park y Baker 2002). El efecto sobre un electroantenograma de varias antenas de una misma especie de insecto conectadas en serie es el aumento de la amplitud de la respuesta obtenida al estimular químicamente a la antena (Moore 1981; Park y Baker 2002). De igual manera, el poder de discriminación de sustancias volátiles en ambientes complejos en olores puede ser aumentado al conectar electrónicamente antenas de diferentes especies (Park *et al.* 2002).

La utilización de antenas de insectos intactas como biocomponentes que sirvan como detectores en biosensores necesita de uniones mecánicas y electrónicas estables que eviten que la antena sufra algún daño durante el proceso (Paczkowski *et al.* 2011). Para ello han demostrado ser de mucha utilidad los BioFETs o sensores híbridos que consisten en la unión de una antena de un insecto y un transistor de efecto de campo (FET) (Schöning *et al.* 2000; Schroth *et al.* 2001). En principio, después de acoplar la antena al FET por medio de una interface compuesta de un electrolito, la señal de la antena puede ser detectada y amplificada por el transistor (Schroth *et al.* 2001). Una vez las moléculas de olor son detectadas la antena genera dipolos eléctricos a lo largo de las sensillas antenales y una suma de todos estos pequeños dipolos se genera a lo largo de toda la antena, la cual es detectada y amplificada por el FET (Schroth *et al.* 2001; Paczkowski *et al.* 2011). Los cambios de corriente registrados por el FET son dependientes de la concentración de la sustancia que la antena detecta (Paczkowski *et al.* 2011).

Dos aproximaciones experimentales han sido evaluadas para BioFETs; la primera consiste en mantener la antena conectada al insecto y la parte distal de la antena embebida en el electrolito. Esta técnica se conoce como “whole-insect BioFET”. Por su parte, la segunda técnica consiste en retirar la antena del insecto, mantener la parte distal y proximal de la antena embebida en el electrolito y utilizar la antena como un sensor aislado del insecto, en este caso se conoce como “isolated-antenna BioFET” (Schroth *et al.* 2001; Paczkowski *et al.* 2011). En cualquiera de los dos casos se debe asegurar que una buena parte de la antena esté expuesta al flujo de aire a analizar (Schroth *et al.* 2001).

En la técnica, para eliminar las respuestas de los mecanorreceptores presentes en la antena es necesario aplicar una corriente de aire constante y a esa corriente se aplican en diferentes momentos las diversas concentraciones de las sustancias químicas a evaluar (Schroth *et al.* 2001).

Cuatro aplicaciones de esta técnica con antenas de insectos se presentan a continuación:

- Detección de fuego; en este caso antenas de los coleópteros pertenecientes a las especies *Melanophila acuminata*, *Leptinotarsa decemlineata* y *Phaenops cyanea* han sido evaluados para detectar incendios en estadios tempranos (Schütz *et al.* 1999; Schroth *et al.* 2001).
- Detección de infestación por fitófagos en cultivos; en este caso se conoce que la especie *Leptinotarsa*

decemlineata es capaz de detectar y reconocer los volátiles emitidos por plantas atacadas por conespecíficos, por el hongo *Phytophthora infestans* o por daños mecánicos producidos por maquinaria agrícola (Schütz y Weissbecker 2003). c) Evaluación del aumento de infestación de insectos pestes de bosques; en este caso sobresale la utilización de antenas de insectos para detectar árboles débiles y que potencialmente pueden ser atacados por insectos. Como ejemplo se tiene al coleóptero *Phaenops cyanea* que es capaz de detectar diferentes volátiles emitidos por el árbol después de sufrir estrés hídrico, daño mecánico o ataque de hongos (Schroth *et al.* 2001; Schütz *et al.* 2004); y d) Estimación del intervalo postmortem en medicina legal; como se describió anteriormente en el texto, las antenas de especies generalistas de insectos pueden ser utilizadas para detectar la presencia de cadáveres, mientras que las antenas de insectos especialistas podrían ser utilizadas para detectar solo determinadas fases en el estado de descomposición del cadáver (Paczkowski *et al.* 2011).

Debido a la diversidad de interacciones ecológicas entre animales y otros organismos vivos en la naturaleza, el concepto de biosensores y aproximaciones biomiméticas pueden conducir a numerosas aplicaciones adicionales para rastrear, vigilar y monitorear procesos ambientales e industriales (Paczkowski *et al.* 2011).

La mayor desventaja de la técnica arriba mencionada es la corta vida de las antenas utilizadas como sensores y por lo tanto la necesidad también de personal especializado para operar el sistema. Por lo tanto, los biosensores son más útiles para realizar pruebas de detección y seguimiento de corta duración y en menor medida monitoreos a largo plazo (Paczkowski *et al.* 2011).

Literature cited

- BAILLY A.; WEISSKOP L. 2012. The modulating effect of bacterial volatiles on plant growth. *Plant Signaling & Behavior* 7: 1-7.
- BALE J.S. 1996. Insect cold hardiness: A matter of life and death. *European Journal of Entomology*. 93: 369-382.
- BEDNAREK P.; OSBOURN A. 2009. Plant-microbe interactions: Chemical diversity in plant defense. *Science* 324: 746-748.
- BÖRÖCZKI K.; WADA-KATSUMATA A.; BATCHELOR D.; ZHUKOVSKAYA M.; SCHAL C. 2013. Insects groom their antennae to enhance olfactory acuity. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 110: 3615-3620.
- BRAKS M.A.H.; TAKKEN W. 1999. Incubated human sweat but not fresh sweat attracts the malaria mosquito *Anopheles gambiae sensu stricto*. *Journal of Chemical Ecology* 25: 663-672.
- BURKLE L.A.; MARLIN J.C.; KNIGHT T.M. 2013. Plant-pollinator interactions over 120 years: Loss of species, co-occurrence, and function. *Science* 339: 1611-1615.
- CURTIS T.P.; SLOAN W.T.; SCANNELL J.C. 2002. Estimating prokaryotic diversity and its limits. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 99: 10494-10499.
- GRIMALDI D.; ENGEL M.S. 2005. *Evolution of the insects*. Cambridge University Press, New York. 755 p.

- HOPKINS D.W.; WILTSHIRE P.E.J.; TURNER B.D. 2000. Microbial characteristics of soils from graves: An investigation at the interface of soil microbiology and forensic science. *Applied Soil Ecology* 14: 283-288.
- IZHAKI I.; FRIDMAN S.; GERCHMAN Y.; HALPERN M. 2013. Variability of bacterial community composition on leaves between and within plant species. *Current Microbiology* 66: 227-235.
- JAMES A.G.; HYLIANDS D.; JOHNSTON H. 2004. Generation of volatile fatty acids by axillary bacteria. *International Journal of Cosmetic Science* 26: 149-156.
- JUNKER R.R.; LOEWEL C.; GROSS R.; DÖTTERL S.; KELLER A.; BLÜTHGEN N. 2011. Composition of epiphytic bacterial communities differs on petals and leaves. *Plant Biology* 13: 918-924.
- KAI M.; HAUSTEIN M.; MOLINA F.; PETRI A.; SCHOLZ B.; PIECHULLA B. 2009. Bacterial volatiles and their action potential. *Applied Microbiology and Biotechnology* 81: 1001-1012.
- KRIMM U.; ABANDA-NKPWATT D.; SCHWAB W.; SCHREIBER L. 2005. Epiphytic microorganisms on strawberry plants (*Fragaria ananassa* cv. Elsanta): Identification of bacterial isolates and analysis of their interaction with leaf surfaces. *FEMS Microbiology Ecology* 53: 483-492.
- LEROY P.D.; SABRI A.; HEUSKIN S.; THONART P.; LOGNAY G.; VERHEGGEN F.J.; FRANCIS F.; BROSTAUX Y.; FELTON G.W.; HAUBRUGE E. 2011. Microorganisms from aphid honeydew attract and enhance the efficacy of natural enemies. *Nature Communications*. 2:348 DOI:10.1038/ncomms1347.
- LINDOW S.E.; BRANDL M.T. 2003. Microbiology of the phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 1875-1883.
- MADIGAN M.T.; MARRS B.L. 1997. Extremophiles. *Scientific American* 4: 82-87.
- MANN R.S.; ALI J.G.; HERMANN S.L.; TIWARI S.; PELZ-STELINSKI K.S.; ALBORN H.T.; STELINSKI L.L. 2012. Induced release of a plant-defense volatile 'deceptively' attracts insect vectors to plants infected with a bacterial pathogen. *PLoS Pathogens* 8 (3): e1002610. doi:10.1371/journal.ppat.1002610.
- MATUSZEWSKI S.; BAJERLEIN D.; KONWERSKI S.; SZPILA K. 2010. Insect succession and carrion decomposition in selected forests of Central Europe. Part 2: Composition and residency patterns of carrion fauna. *Forensic Science International* 195: 42-51.
- MOORE I. 1981. Biological amplification for increasing electroantennogram discrimination between two female sex pheromones of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Chemical Ecology* 7: 791-798.
- ORTIZ M.I.; MOLINA J. 2010. Preliminary evidence of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Triatominae) attraction to human skin odour extracts. *Acta Tropica* 113: 174-179.
- ORTIZ M.I.; SUAREZ-RIVILLAS A.; MOLINA J. 2011. Behavioral responses to human skin extracts and antennal phenotypes of sylvatic first filial generation and long rearing laboratory colony *Rhodnius prolixus*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 106: 461-466.
- PACZKOWSKI S.; SCHÜTZ S. 2011. Post-mortem volatiles of vertebrate tissue. *Applied Microbiology and Biotechnology* 91: 917-935.
- PACZKOWSKI S.; WEISSBECKER B.; SCHÖNING M.; SCHÜTZ S. 2011. Biosensors on the basis of insect olfaction. Chapter 12. 225-240 p. En: *Insect Biotechnology, Biologically-inspired systems 2*. Vilcinskis A. (Ed.). Springer Verlag, New York. 268 p.
- PARK K.C.; BAKER T.C. 2002. Improvement of signal-to-noise ratio in electroantennogram responses using multiple insect antennae. *Journal of Insect Physiology* 48: 1139-1145.

- PARK K.C.; OCHIENG S.A.; ZHU J.; BAKER T.C. 2002. Odor discrimination using insect electroantennogram responses from an insect antennal array. *Chemical Senses* 27: 343-352.
- PELEG A.Y.; TAMPAKAKIS E.; BURGWYN B.; ELIOPOULOSG.M.; MOELLERING R.C.; MYLONAKIS E. 2008. Prokariote-eukariote interactions identified by using *Caenorhabditis elegans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 105: 14585-14590.
- RYU C-M.; FARAG M.A.; HU C-H.; REDDY M.S.; WEI H-X.; PARÉ P.W.; KLOPPER J.W. 2003. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 100: 4927-4932.
- SCHNEIDER D. 1957. Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo- und Mechanorezeptoren der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L. *Zeitschrift für Vergleichende Physiologie*. 40: 8-41.
- SCHROTH P.; SCHÖNING M.J.; LÜTH H.; WEISSBECKER B.; HUMMEL H.E.; SCHÜTZ S. 2001. Extending the capabilities of an antenna/chip biosensor by employing various insect species. *Sensors and Actuators B*. 78: 1-5.
- SCHULZ S.; DICKSCHAT J.S. 2007. Bacterial volatiles: The smell of small organisms. *Natural Products Report* 24: 814-842.
- SCHÜTZ S.; WEISSBECKER B. 2003. Mechanismen duftvermittelter Pflanze-Insekt-Interaktionen: von Pflanzenstress zum Pflanzenfrass. *Nova Acta Leopoldina NF*. 87: 215-235.
- SCHÜTZ S.; WEISSBECKER B.; HUMMEL H.E.; APEL K-H.; SCHMITZ H.; BLECKMANN H. 1999. Insect antenna as smoke detector. *Nature* 398: 298-299.
- SCHÜTZ S.; WEISSBECKER B.; APEL K-H.; WENK M. 2004. Duftstoffsignale als Marker für die Befallsdisposition von Kiefern durch den Blauen Kiefernprachtkäfer *Phaenops cyanea* F. (Col. Buprestidae). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* 14 :301-306.
- SCHÖNING M.J.; SCHROTH P.; SCHÜTZ S. 2000. The use of insect chemoreceptors for the assembly of biosensors based on semiconductor field-effect transistors. *Electroanalysis*. 12: 645-652.
- STATHEROPOULOS M.; AGAPIOU A.; SPILIOPOULOU C.; PALLIS G.C.; SIANOS E. 2007. Environmental aspects of VOCs evolved in the early stages of human decomposition. *Science of the Total Environment*. 385: 221-227.
- STENSMYR M.C. 2004. The fly nose – Function and evolution. *Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp*. 50 p.
- STENSMYR M.C.; URRU I.; COLLU I.; CELANDER M.; HANSSON B.S.; ANGIOY A.M. 2002. Rotting smell of dead-horse arum florets. *Nature* 420: 625-626.
- STRATHDEE A.T.; BALE J.S. 1998. Life on the edge: Insect ecology in arctic environments. *Annual Review of Entomology* 43: 85-106.
- TORSVIK V.; OVREAS L.; THINGSTAD T.F. 2002. Prokariotic Diversity – Magnitude, dynamics, and controlling factors. *Science* 296: 1064-1066.
- VASS A.A.; SMITH R.R.; THOMPSON C.V.; BURNETT M.N.; DULGERIAN N.; ECKENRODE B.A. 2008. Odor analysis of decomposing buried human remains. *Journal of Forensic Sciences* 53: 384-391.
- VERHULST N.O.; BEIJLEVELD H.; KNOLS B.G.J.; TAKKEN W.; SCHRAA G.; BOUWMEESTER H.J.; SMALLEGANGE R.C. 2009. Cultured skin microbiota attracts malaria mosquitoes. *Malaria Journal*. 8:302 doi:10.1186/1475-2875-8-302.

- VERHULST N.O.; TAKKEN W.; DICKE M.; SCHRAA G.; SMALLEGANGE R.C. 2010. Chemical ecology of interactions between human skin microbiota and mosquitoes. *FEMS Microbiology Ecology* 74: 1-9.
- WATANABE M.; KIKAWADA T.; MINAGAWA N.; YUKUHIRO F.; OKUDA T. 2002. Mechanism allowing an insect to survive complete dehydration and extreme temperatures. *Journal of Experimental Biology* 205: 2799-2802.
- WERREN J.H. 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annual Review of Entomology* 42: 587-609.
- WITZGALL P.; PROFFIT M.; ROZPEDOWSKA E.; BECHER P.G.; ANDREADIS S.; CORACINI M.; LINDBLOM T.U.T.; REAM L.J.; HAGMAN A.; BENGTSSON M.; KURTZMAN C.P.; PISKUR J.; KNIGHT A. 2012. "This is not an apple"-Yeast mutualism in codling moth. *Journal of Chemical Ecology* 38: 949-957.